المملكة العربية السعودية

مدينة الملك عبدالعزيز
للعلوم والتقنية KACST
المركز الوطني للتقنية الزراعية

استخدام تقنية زراعة الأنسجة في إكثار النخيل

إعداد

أ.د. ناصر بن صالح الخليفة



الرياض
١٤٣٢هـ - ٢٠١١م

المملكة العربية السعودية

مدينة الملك عبدالعزيز للعلوم والتقنية KACST

المركز الوطني للتقنية الزراعية

استخدام تقنية زراعة الأنسجة في إكثار النخيل

إعداد

أ.د. ناصر بن صالح الخليفة

الرياض

١٤٣٢هـ - ٢٠١١م

ⓗ مدينة الملك عبدالعزيز للعلوم والتقنية، ١٤٣١هـ

فهرسة مكتبة الملك فهد الوطنية أثناء النشر

الخليفة، ناصر صالح
استخدام تقنية زراعة الانسجة في اكثار النخيل. / ناصر بن صالح الخليفة.- الرياض ، ١٤٣٢هـ
٠٠ص ، ٠٠ سم هـ
ردمك: ٤-٣٣-٨٠٤٩ - ٦٠٣ -٩٧٨

١- النخيل - زراعة ٢- علم الانسجة أ. العنوان

ديوي ٥٨٤,٤٣ ١٤٣٢ / ٧٨٧٧

رقم الإيداع : ٧٨٧٧ / ١٤٣٢
ردمك: ٤-٣٣-٨٠٤٩ - ٦٠٣ -٩٧٨

بسم الله الرحمن الرحيم

﴿وَنَزَّلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً مُبَارَكًا فَأَنْبَتْنَا بِهِ جَنَّاتٍ وَحَبَّ الْحَصِيدِ ﴿٩﴾ وَالنَّخْلَ بَاسِقَاتٍ لَهَا
طَلْعٌ نَضِيدٌ ﴿١٠﴾ رِزْقًا لِلْعِبَادِ وَأَحْيَيْنَا بِهِ بَلْدَةً مَيْتًا كَذَلِكَ الْخُرُوجُ ﴿١١﴾﴾. سورة ق (٩-١١)

المحتويات

– مقدمة	٧
– مصدر نخيل الأنسجة	٨
– الإكثار التقليدي للنخيل	٩
– الإكثار النسيجي للنخيل	١٠
– البيئات أو الأوساط الغذائية	١٩
– الجودة النوعية لنخيل الأنسجة	٢٧
– صعوبات إكثار نخيل الأنسجة	٢٨
– مراحل النمو في نخيل الأنسجة وأشكاله	٣٤
– نماذج من النخيل النسيجي	٣٥
– مواصفات بعض أنواع النخيل النسيجي	٣٦
– نقل وزراعة فسائل الأنسجة	٤٠
– المراجع	٤٣
– الجداول والملاحق	٤٧

مقدمة

تعتبر النخلة المصدر الرئيس لأحد أهم الأغذية في الدول العربية والعالم الإسلامي وهو التمر إذ كان سكان الصحراء إلى وقت قريب يعتمدون عليه كمصدر رئيسي لغذائهم، وتشير تقارير منظمة الأغذية والزراعة (فاو) العالمية (FAO) للعام ٢٠٠٥م، أن العالم يضم ما يزيد عن ٩٠ مليون نخلة تمر منها أكثر من ٦٤ مليون نخلة في العالم العربي، تنتج أكثر من مليوني طن من التمور سنوياً ، تتوزع هذه الكمية من أشجار النخيل على أكثر من ٦٠٠ صنف في العالم العربي . وتعتبر مصر حالياً على رأس الدول العربية في زراعة النخيل عدداً، تعقبها المملكة العربية السعودية، فالعراق، ثم الجزائر والمغرب العربي، بينما تعتبر السعودية الأولى من حيث التنوع حيث تصل أنواع النخيل إلى مايزيد عن٤٥٠ صنفاً، ومع الإنتاج المكثف للنخيل عن طريق تقنية الزراعة النسيجية خلال العقدين الأخيرين، فقد يختلف ترتيب الكثافة الإنتاجية إذ يمكن أن تكون المملكة حالياً قد سبقت مصر.

وتمثل النخيل للمملكة أهمية اقتصادية كبرى إذ تعتبر أحد المحاصيل الرئيسة متعددة الفوائد والاستخدامات، حيث يزرع بالمملكة ما يزيد على٢٠ مليون نخلة منها أكثر من ١٦ مليون نخلة منتجة وصل إنتاجها (٩٤٢٠٠٠) طن عام ٢٠٠٤م، وقد وصل العدد عام ٢٠١٠م إلى ٢٣ مليون نخلة حسب تصريح وزير الزراعة، هذه الأعداد تتوزع على مساحة إجمالية بلغت ١٤٩٠٠٠ هكتار أي بنسبة ٧٣٪ من إجمالي مساحة المحاصيل المستديمة التي تصل مساحتها إلى حوالي ١٧٣,٠٠٠ هكتار (وزارة الزراعة ٢٠٠٨)، زرع من إجمالي أعداد النخيل بالمملكة باستخدام تقنية زراعة الأنسجة ما يزيد عن مليوني نخلة، تم استيراد بعضها وإنتاج الباقي من قبل معامل زراعة نسيجية محلية في القطاعين الحكومي والخاص، والذي يشير إلى التوجه الواضح من قبل القطاعات الحكومية والقطاع الخاص نحو استثمار تقنية زراعة الأنسجة في إنتاج النخيل وتطبيق عمليات الإنتاج المكثف والمحسن لهذا المحصول المهم مما نتج عنه توسعاً ملحوظاً في المساحة المزروعة خلال

العقد الأخير. ولا ينحصر تطبيق هذه التقنية على النخيل في المملكة فقط وإنما هناك دول عديدة سبقت المملكة في هذا المجال إذ تشير الأبحاث في شمال أفريقيا وجنوب أوروبا خاصة فرنسا (Ammar et al, 1977; El-Hennawy et al, 1978; Reuveni et al, 1972; Schroeder 1970; Smith 1975; Tisserat 1979) إلى تطبيق هذه التقنية لغرض إنتاج نخيل خالٍ من مرض البيوض المنتشر في شمال افريقيا وكذلك إنتاج أصناف ذات جودة عالية. كما ازدهرت هذه التقنية في المملكة والخليج قبل عقدين لإنتاج أصناف تقلل من التكاليف العالية للنخيل حيث انخفضت قيمة الفسيلة إلى أقل من ١٠٪ من قيمتها قبل عقدين. وتحد تقنية زراعة الأنسجة من بعض المشاكل التي تواجه النخيل، مثل: سوسة النخيل الحمراء والبيوض. وتتضح أهمية تطبيق هذه التقنية على النخيل من خلال التوسع في زراعتها في بعض الدول خاصة في أفريقيا، مثل: السودان وسهولة تدأول الدول للفسائل ونقلها من بلد إلى آخر حيث يمكن نقلها بدون تربة مما يرفع عنها الحضر من قبل المحاجر الزراعية، كما أن بعض الدول رغم عدم زراعتها للنخيل وعدم مناسبته لمناخها وبيئتها إلا أنها لم تتردد في الاستثمار فيه مثل مختبرات زراعة الأنسجة في بريطانيا وفرنسا، كما يلاحظ أن النخيل يدخل مع محاصيل أخرى في النشاط الاستثماري بهذه التقنية. يهدف هذا الكتيب إلى الإضافة إلى المعرفة الحالية عن تقنية زراعة الأنسجة بشكل عام . ونوضح من خلاله ما توصلت إليه تطبيقاتها على النخيل من خلال التجارب والأبحاث التي قام بها باحثون في المملكة والدول الأخرى بتقديم بسيط يفهمه القارئ العادي.

مصدر نخيل الأنسجة

تعتبر النخلة من النباتات دائمة الخضرة ذات ساق واحدة تصل في ارتفاعها إلى أكثر من ٣٠ متراً، يتكون في أسفل هذه الساق في السنوات الأولى من عمر النخلة فسائل أو خلفات(شكل ١) هي ما يستخدم كمصدر للأجزاء النباتية Explants التي يتم

عن طريقها إكثار النخيل بزراعة الأنسجة ، حيث يتم إستخدام البرعم الطرفي (القمة النامية) للفسائل وهو البرعم الوحيد بالنسبة للنخيل والذي يطلق عليه من قبل المزارعين بالجمارة، حيث أن بذور النخيل لاتصلح أن تكون وسيلة إكثار ، و ثبت ذلك من واقع تجارب المزارعين ومن واقع التجارب العلمية أن البذور ينتج عنها تشتت وراثي بما يزيد عن ٥٠٪ ذكور (فحول) كما أن ال٥٠٪ الإناث لا تعطي نباتات مطابقة للأم أي أنها غير أصيلة وراثياً وينتج عنها طفرات وراثية (نبوت)، كما أن طريقة الإكثار بالبذور تعتبر بطيئة نسبياً، هذه الحقيقة جعلت الكثير من المزارعين لا يقبلون على طريقة الإكثار البذري للنخيل ويستغنون عنها بالطريقة التقليدية (الإكثار بالفسائل). وعندما نعلم أن عدد الفسائل محدود في كثير من أنواع النخيل ومحصور إنتاجها في السنوات الأولى من عمر النخلة ، فإن تقنية زراعة الأنسجة قد جاءت لتحل هذا الإشكال حيث يمكن من خلالها استخدام فسيلة واحدة لإنتاج مئات الفسائل بالأنابيب كما يمكن استخدام الأم كمصدر في حال كونها متميزة ولا تحمل فسائل.

<u>الإكثار التقليدي للنخيل</u>

هناك طرق عديدة لإكثار النخيل مثل: الإكثار بالفسائل أو البذور ،أو الأمهات (النقائل) وهي النخلة الكاملة. ولكل من هذه الطرق مميزاتها وعيوبها، حيث تعتبر طريقة الإكثار بالفسائل هي الأكثر شيوعاً لما لها من سمات مطابقة الفسائل للأمهات التي تعتبر من أهم عناصر تدأول النخيل بين المزارعين والتجار إلا أن هذه الطريقة تعتبر محدودة بنقص أعداد الفسائل المتدأولة من بعض الأنواع المتميزة لمحدودية إنتاجها ولكون إنتاج الفسائل يقتصر على السنوات الأولى من عمر النخيل مما يقلل العرض وبالتالي ارتفاع أسعار تلك الفسائل. كما تعتبر الفسائل أحد وسائل نقل الأمراض والحشرات بين المزارع والمناطق بالاضافة إلى نسبة الفشل التي أحياناً تتجأوز ٤٠ ٪ عند إكثارها تقليدياً.

وتعتبر البذور وسيلة أقل إستخداماً لإكثار النخيل نظراً لعدم إمكان ضمان التطابق

الوراثي بين الفسيلة (النبتة) ومصدرها الذي غالباً يكون غير معروف خاصة المصدر الذكري الذي تكونت هذه البذور عن طريق التلقيح به ، مما نتج عن هذه الطريقة تشعباً وراثياً لا يمكن للمنتج (المزارع) التنبؤ به إلا بعد بلوغ الأشجار مرحلة الإنتاج بعد ٥-٧ سنوات مما يجعل هذه الطريقة مكلفة، حيث إن احتمال مطابقة الأمهات قد لاتتجأوز ٢٥٪ بينما تمثل النسبة المتبقية طفرات وراثية (نبوت) قد لاتكون مرغوبة في الغالب إلا أن هذه الطريقة كانت أيضاً مصدراً للإنتاج العشوائي لبعض الأنواع المتميزة المتدأولة حالياً، وقد أثرت طريق الإكثار بالبذور على سعة التباين في أنواع النخيل ، حيث بلغت في المملكة ما يزيد عن ٤٥٠ صنف. كما تعتبر عملية نقل الأمهات أحد وسائل الاكثار التقليدي للنخيل لإنشاء مزارع جديدة أو إضافة أنواع مرغوبة ، والغالب أن هذه الطريقة تستخدم في التشجير التجميلي للمدن حيث تضاف لعناصر تجميل الشوارع والميادين والمباني العالية.

<u>الإكثار النسيجي للنخيل</u>

سميت تقنية زراعة الأنسجة بهذا الاسم لأن بدايات هذه التقنية كانت تعتمد كلياً على الأنسجة كجزء نباتي يستزرع في الأنابيب in vitro، ويذكر علماء النبات أن التقنية التي بنيت عليها تقنية زراعة الأنسجة أتت بفضل تراكم بعض المعارف عن أحداث لوحظت للى سلوك النباتات ، بدءاً من ملاحظات عالم النبات الفرنسي Duhamel Du Monceau خلال بدايات القرن الثامن عشر ، بأن الكالس يتكون على جروح سيقان بعض النباتات الخشبية ، تلى ذلك أثبت (Schwann 1839) أن أي خلية من النباتات يمكن فصلها وأن هذه الخلية يمكن أن ينشأ عنها نبات كامل ، وقد لاحظ (Haberlandet 1902) أن الخلية لديها المقدرة على تكوين نبات أو عدة نباتات إذا كانت في ظروف بيئية تسمح بذلك وسميت هذه الظاهرة ب Totipotency. وبدأت ملامح تقنية زراعة للأنسجة تتضح عندما أمكن زراعة بعض الأعضاء النباتية، مثل: جذور الذرة (Robbins 1928)، والطماطم (White 1939) وبراعم الأسبرقس (Loo 1945) وقد

كان لاكتشاف منظمات النمو مثل الأكسين (White 1939) والتعرف على دوره في تكون الكالس واستحثاث نموه، ثم اكتشاف السيتوكينين (Miller et al 1955) والتعرف على دوره في التشكل العضوي organogenesis، دور مهم في تقدم تقنية زراعة الأنسجة.

وتعتبر طريقة الإكثار الدقيق Micropropagation أحد وسائل زراعة الأنسجة وأكثرها تعقيداً إذ تمثل مراحل الزراعة بالأنابيب in vitro، حيث تتميز بالإنتاج المكثف للنباتات داخل الأنابيب، وغالبا تستخدم فيها الأعضاء المنتظمة organized structures مثل: القمة المرستيمية، البراعم الإبطية أو البراعم العرضية أو الأجنة الكاملة .بينما تشمل الزراعة النسيجية المراحل كاملة بما فيها الإكثار الدقيق. وفي النخيل تستخدم الفسائل الأرضية المتصلة بالأم أو الفسائل الهوائية " البراعم العرضية" وهي الرواكيب شكل (١).




شكل (١) مصادر البراعم النسيجية من النخيل :براعم أرضية وبراعم هوائية (عرضية).

بدأت تقنية زراعة الأنسجة مع اقتراح Murashige (1974) للمراحل الثلاث التي تمر بها هذه الطريقة ، والتي نقحت لاحقاً من بعض الباحثين لتصبح خمس مراحل ، بدءا من:

(١) مرحلة الصفر

(مرحلة الإعداد) وفيها يقوم الباحث بإعداد خطة واضحة ومرسومة لتحقق هدف معين ، مثل: إنتاج أعداد كبيرة من النباتات أو إنتاج نباتات لأغراض التربية والتحسين أو حفظ نباتات كأصول وراثية.

(٢) **المرحلة الأولى**

يتم فيها الحصول على نباتات سليمة من الميكروبات axenic وحية viable. وقادرة على التميز. حيث تعامل النباتات بواحد أو أكثر من المعقمات لاستبعاد الملوثات الميكروبية بتركيزات نضمن معها بقاء الخلايا حية ويتم في هذه المرحلة أيضاً شطف النباتات بماء معقم ونقي لإزالة أثر المعقمات قبل الزراعة بالانابيب.

أ- أختيار الفسيلة المناسبة

يتم تحديد الصنف المرغوب إكثاره : سكري، برحي،...إلخ وذلك يكون بمعرفة الأم المتميزة في مزرعة معروفة ويتم التأكد من أن الفسيلة متصلة بالأم وليست نبتة ناشئة من بذرة. يتم فصل الفسيلة بروية بحيث نحافظ على سلامة البرعم " الجمارة " ويتم إزالة ما يحيط به من السعف والكرب والليف تدريجياً إلى أن نصل إلى الجزء اللين وذلك خارج المختبر ثم يغسل ويعقم سطحياً بمحلول تعقيم ويدخل المختبر ويستمر إزالة ما يحيط بالبرعم من أغلفة هشة إلى أن نصل إلى الغلاف الأخير للبرعم شكل (٢).



شكل (٢) القمة النامية (الجمارة) كمصدر للزراعة النسيجية في النخيل.

ب- يوضع البرعم عارياً من الأغلفة الخارجية في محلول من حمضي الستريك بواقع ١٥٠ مللتر / لتر والأسكوربيك بواقع ١٠٠ مللتر / لتر في كأس ويكمل المحلول بماء مقطر ويترك لمدة لاتقل عن نصف ساعة لحين البدء في زراعته نسيجياً وذلك لتلافي تأكسد أنسجة البرعم شكل (٣).



شكل (٣) غمر البرعم في أحماض لتلافي تأكسد القمة النامية.

ج- يستخرج البرعم من المحلول تحت الكبينة الحيوية المعقمة ويفرد على صينية معقمة وتستبعد منه الأغلفة الخارجية إلى أن نصل للجزء المرسيمي القمي الذي في هذه الحال هو المعني كمصدر للأنسجة الابتدائية للزراعة النسيجية للنخلة Explant تقطع هذه الأجزاء بأحجام صغيرة لا تتجاوز ١ سم مربع تعقم سطحيا بمحلول يحتوي كلورين مثل ١٠٪ من أحد المبيضات التجارية شكل (٤) لمدة لاتتجاوز ٥ دقائق ثم تشطف بماء معقم ومقطر.



شكل (٤) بعض مواد التعقيم السطحي لبراعم النخيل.

يضاف إلى محلول التعقيم السطحي ٢-٣ نقط من مادة Tween -20 التي تساعد على تغلغل مادة التعقيم لأنسجة البراعم.

د- يفترض في هذه المرحلة أن تكون البيئة الخاصة بتنشئة الكالس جاهزة ومحضرة تحت الكابينة بأنابيب تحتوي كل منها ٢٥-٤٠ مل بيئة محضرة حديثاً ، وتكون الأدوات من مشارط وشفرات وملاقط معقمة ومبردة ويقوم العامل أيضاً بالتعقيم السطحي لسطح

الكبينة ويديه مستخدماً ٧٠-٨٠ ٪ كحول مناسب ويتجهز بالاحتياطات اللازمة من كمامات وغطاء للرأس وقفازات شكل (٥).



شكل (٥) الكابينة الحيوية . أحد أساسيات تجهيز الزراعة النسيجية.

هـ- إذا كانت الزراعة في أنابيب توضع كل قطعة explant في أنبوبة بوضع يشبه تماماً وضعها في البرعم المفصولة منه بحيث لاتكون مقلوبة وهذا يستحث سرعة التميز.

(٣) المرحلة الثانية

يتم فيها إعداد البيئات المغذية المناسبة لنوع النبات أو الجزء النباتي ومرحلة النمو المستهدفة ، حيث يتم التحكم في أنواع وتركيزات الهرمونات المناسبة لتكاثر وتضاعف الزريعات داخل الأنابيب والتي غالباً ما تكون من أنواع الأكسينات ثم السيتوكينينات أو كلاهما حسب مرحلة النمو شكل (٦).



(أ) (ب) (ج) (د)

شكل (٦) (أ)- تكون كالس النخيل في الأنابيب (ب)- تكون الأجنة (ج)- تضاعف الأجنة (د) - استطالة الأجنة.

(٤) المرحلة الثالثة

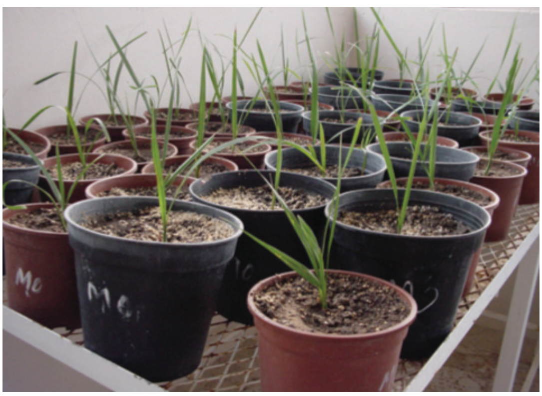
يتم فيها أيضاً إعداد بيئات جديدة لتنقل اليها النباتات المزروعة سابقاً لغرض إطالة الزريعات وتجذيرها Root induction وتستخدم الجبريلينات للإطالة والأكسينات للتجذير. وتعرض البادرات في غرف نمو معقمة تحت إضاءة من ٢٠٠٠ إلى ٣٠٠٠ لكس ودرجة حرارة ٢٧°م ±١ (شكل ٧).



شكل (٧) تضاعف البادرات ثم تكوين الجذور وتقسيتها داخل الانابيب.

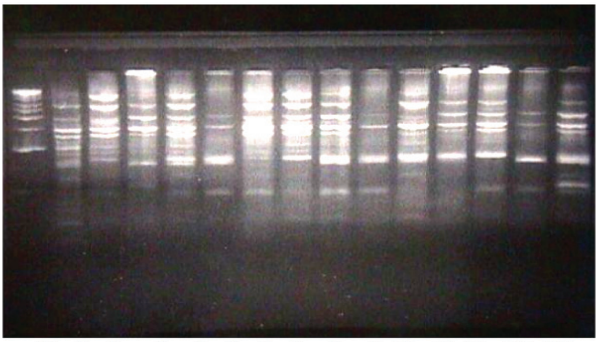
(٥) المرحلة الرابعة

نقل البادرات إلى البيت المحمي وما تتطلبه هذه المرحلة من أقلمة حيث تستخرج النباتات الكاملة المحتوية على جذور حقيقية من الوسط الغذائي إلى بيئة سائلة في أنابيب تناسب طول النبات وتحتوي على محلول هوقلاند المحتوي على عناصر صغرى



شكل (٨) أقلمة بادرات النخيل النسيجية في حاضنات أو غرف مكيفة بعد زراعتها في التربة.

وعناصر كبرى (سيرد ذكرها لاحقاً)، تحضن هذه البادرات لمدة شهر أو أكثر ثم تنقل إلى ترب معقمة ورمل مغسول وتحضن لمدة أربعة أسابيع قبل أن تنقل إلى حاضنات في المشتل (شكل ٨). كما يمكن في هذه المرحلة اختبار الجودة النوعية للنباتات ومطابقة صدقها الوراثي True to type وذلك بمطابقتها مع الأمهات (Debergh & Maene 1981) (شكل ٩).



M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14

RAPD Profile of 14 different cultivars of date palm using primer OPA-11. M: Kilo Base DNA size marker.

شكل (٩) البصمة الوراثية للحمض النووي DNA باستخدام البادئ (أوبرون-١١) لأربعة عشر صنفاً من النخيل المنتجة نسيجياً وهى أحد وسائل تأكيد الجودة النوعية للمنتج.

وتمر كل مرحلة من المراحل المذكورة بنظام معملي فيه الكثير من المعوقات والمشاكل، بدءاً من مشاكل تلوث البيئات المغذية والأجزاء النباتية Explants وموتها أو فقد حيويتها بفعل المعقمات، ثم مشاكل مناسبة العناصر المغذية في بيئات النمو بالإضافة إلى تأثير العوامل البيئية خاصة الحرارة والضوء.

ولزراعة الأنسجة تسميات terms تطلق حسب الغرض الذي يتم العمل من أجله وحسب الجزء النباتي المستخدم وحسب البرنامج الذي يتبعه الباحث في إجراء الدراسة أو التطبيق. وهناك ثلاث طرق للإكثار الدقيق تعتبر أكثر شيوعاً بين العاملين في مجال زراعة الأنسجة وهي :

(١) **إطالة البرعم الإبطي** axillary shoot elongation وهي أكثر الطرق شيوعاً

خاصة مع النباتات الخشبية ، وفيها يكسر كمون هذه البراعم باستخدام هرمونات البيئة المغذية خاصة السيتوكينين، ويتلافى فيها حدوث اختلافات وراثية.

(٢) **التشكل العضوي** Organogenesis ويتم بهذه الطريقة استحثاث تكون ونمو براعم عرضية Adventitious shoots مباشرة على الجزء النباتي المستزرع مثل قاعدة برعم أو ورقة.

(٣) **التشكل الجنيني** Somatic embryogenesis وغالباً ما تتشكل الأجنة الجسمية على جزء نباتي تم إعادة استزراعه subcultured أو على الكالس المتشكل على الأجزاء النباتية ، وهذه الطريقة مفضلة عندما يكون الغرض من الزراعة النسيجية إنتاج كم هائل من البادرات (Bonga &VonAderkas 1992).

ونظراً للطبيعة المورفولوجية للنخيل والمتمثلة بوجود برعم قمي واحد لكل نخلة، فإنه لايمكن تطبيق الطريقة الأولى وتطول فترة الإنتاج عند إستخدام الطريقة الثانية وبالتالي تصبح الطريقة الثالثة هي الأكثر شيوعاً في الإكثار الدقيق للنخيل. وحديثاً أصبح بمقدورنا إستخدام مصدراً جديداً للإكثار النسيجي للنخيل وهي الأزهار غير المتفتحة في مقتبل عمرها حيث تكون خلاياها غير متميزة في هذه المرحلة، وعند زراعتها تستجيب للبيئة الغذائية أسرع من الجمارة في الاستطالة ثم تكوين الكالس والكالس الجنيني وما يميزها عن الجمارة أيضاً سهولة تعقيمها وتدأولها عند الزراعة بالأنابيب لأنها تكون شبه خالية من الملوثات خاصة إذا أخذت العينات قبل تفتح غلاف الزهرة (الكرانيف)، ويبقى أن تكون هذه المصادر تحت التجريب والتقييم في ما يتعلق بإنتاجيتها كماً ونوعاً (Al-Khalifah 2006).

وتوفر تقنية زراعة الأنسجة الكثير من المميزات كما ورد في كثير من المراجع منها (Debergh et. al 1986) وكما استنتجناه من خلال متابعتنا لتجارب الزراعة النسيجية مقارنة بطرق إكثار النخيل التقليدية الأخرى ، من هذه المميزات:

١- تلافي الاختلافات الوراثية التي تحدث في االنخيل المنتجة عن طريق البذور وإمكان إنتاج نباتات مشابهة للأمهات True to type تماماً كما يحدث في النخيل الفسيلي .

٢- الإنتاج المكثف والسريع للبادرات بنوعيات جيدة.

٣- تلافي الأمراض والأسباب المرضية حيث تربى النباتات بجميع مراحلها بحاضنات معقمة

٤- إنتاج نباتات يصعب إنتاجها بالطرق التقليدية مثل: أن تكون بذورها عقيمة أو حساسة أو تتطلب عائل لإنباتها.

٥- استخدام هذه التقنية في تربية النبات والتحسين الوراثي.

٦- استخدامها كعامل مساعد في تعريف وتصنيف النباتات بالبصمة الوراثية.

٧- تدخل هذه التقنية في كثير من الدراسات الحيوية مثل اختبار الأسمدة والمغذيات، والاجهادات الملحية والحرارية وغيرها.

٨- تستخدم كوسيلة لاستيراد النباتات عوضاً عن البذور أو الفسائل.

٩- وسيلة لحفظ الأصول الوراثية.

١٠- وضع النخيل المنتج نسيجياً في مراكن مناسبة حسب الغرض يمكن زراعتها في أي موسم لأنها تزرع كنبات كامل مختلفاً عن الفسائل التقليدية التي لاتحتوي على جذور.

وكما أن لهذه التقنية مميزات فهي لا تخلو من العيوب ويأتي على رأسها ما ظهر جلياً في السنوات الأخيرة من معاناة بعض المزارعين من بعض الظواهر الفسيولوجية مثل صعوبة العقد في نخيل البرحي وكذلك ظاهرة التقزم في بعض البادرات النسيجية المزروعة، هذا بالإضافة إلى بعض الصعوبات الأخرى مثل :

١- الحاجة إلى كفاءات علمية متخصصة لإجرائها.

٢- ارتفاع تكاليف الإنشاء والتشغيل .

٣- بطء الإنتاج في حالة بعض النباتات المنتجة مقارنة بطريقة العقل والفسائل.

٤- امكان حدوث مشاكل غير متوقعة من تلوث وموت للنباتات في الأنابيب.

٥- بطء ثقة الناس بهذه الطريقة.

البيئات أو الأوساط الغذائية لزراعة النخيل

تتكون البيئة المستخدمة في أي زراعة نسيجية من ستة مكونات تشمل العناصر الكبرى، العناصر الصغرى والتي تشكل المكونات غير العضوية وغالبا تضاف على هيئة مركبات كيميائية ويحتاج النبات من العناصر الكبرى كميات أكبر من الصغرى تقاس بالملليمول/ لتر بينما تقاس الصغرى بالميكرومول / لتر وتمثل المكونات العضوية كل من منظمات النمو (الهرمونات والأحماض الأمينية والفيتامينات)، السكر كمصدر طاقة، الأجار كوسط مثبت، الفحم المنشط كمضاد للأكسدة والحد من المركبات الفينولية . تركيب هذه المكونات يوضحه الجدول (١). وتعتمد مستويات نجاح الزراعة النسيجية بالمقام الأول على تركيب البيئة من العناصر والتي يعتمد عليها النمو والتشكل في النبات حسب الصنف وطبيعة النبات فمثلا يمكن لبعض النباتات النمو ببيئة تتكون من العناصر غير العضوية مع السكر فقط بينما تتطلب النباتات الأخرى جميع مكونات البيئة. النباتات الغضة لاتتطلب تراكيز عالية من الهرمونات بينما النباتات الصحرأوية مثل النخيل يتطلب في بداية تفعيل التشكل الجنيني إلى تركيز عالي من هرمون الأكسين 2,4-D. وهذا التركيز يعتبر عالي في تشكل النباتات الاخرى وقد يؤدي إلى التطفير. ويشترط في استخدام هذا الهرمون عدم إطالة فترة التعريض وعدم تكرار استخدامة في مراحل الزراعة الواحدة.

تشمل العناصر الكبرى التي تتكون منها البيئة الغذائية معظم العناصر التي يحتاجها النبات لتنشيط الخلايا والأنسجة مثل : النيتروجين، الكبريت، الفوسفور، الكالسيوم، الماجنيسيوم، والبوتاسيوم. بينما تتمثل العناصر الصغرى من مكونات أقل احتياجاً للنبات مثل : الحديد، البورون، النحاس، الكوبالت، المنجنيز، الموليبدنم، والزنك.

تركيبات العناصر

تضاف العناصر غالباً في صورة مركبات قابلة للذوبان والتحول إلى صور يستفيد منها

النبات بصورته المزروعة بالأنابيب سواءً خلايا أو أجنة أو أنسجة أو أعضاء أو نبات كامل وحسب المرحلة أو الغرض سواء مرحلة تشكل جنيني أو تضاعف أو استطالة أو تجذير.
والعناصر الكبرى تضاف إلى الأوساط الغذائية بصورة كافية (ملليمولر mM).

النيتروجين (N)

يعتبر النيتروجين ضروري لحياة النبات حيث أنه يدخل في تركيب مكونات النبات من البروتينات والأحماض والكلوروفيل وغيرها .... ويضاف النيتروجين بصور مختلفة من المركبات، مثل: نترات البوتاسيوم KNO_3 أو نترات الأمونيوم NH_4NO_3 وهذه المركبات مهمة للتوازن الأيوني والكاتيوني ولنقل العناصر من خلال الأوعية.

البوتاسيوم (K)

يعتبر البوتاسيوم كاتيون أحادي متحرك في خلايا الخشب واللحاء في الجذور والساق في النبات ويتركز بكميات كبيرة في خلايا النبات تصل إلى ٢٠٠ ملليمولر وهو مهم لانقسام الخلايا ونمو القمة النامية وفي الأوساط الغذائية يقوم بدور في توفير الكربوهيدرات كمصدر للطاقة واستحثاث التفاعلات الإنزيمية بالنبات .

الكبريت (S)

يضاف الكبريت إلى البيئة كأيونات SO_4 من ١-٣ ملليمولر مع الماغنسيوم على هيئة كبريتات الماغنسيوم هذا المركب يدخل في تفاعل مع مركب الطاقة ATP في الجذور ليتحول إلى تركيبات مهمة لتكوين الجذور والكلوروفيل لذا فإن إضافته خلال مراحل الاستطالة وتكوين الجذور يعتبر مهماً جداً.

الكالسيوم (Ca)

يضاف الكالسيوم إلى البيئة بصورة نترات كالسيوم أو كلوريد كالسيوم بمعدل ١-٣ مليمولر وهذا المركب يساهم في بناء جدر الخلايا حيث يعمل على تثبيط الإنزيم المسؤول

عن تكسير البكتين كما يتحكم في نفاذية الأغشية وبالتالي نفاذ الكربوهيدرات والبروتين من وإلى محتوى الخلية ونقص الكالسيوم يؤدي إلى موت القمم في الجذور، مما يحد من الامتصاص.

المغنسيوم (Mg)

تتطلب بيئة الزراعة النسيجية في كثير من النباتات عنصر الماغنسيوم والذي يضاف بصورة مركب كبريتات الماغنسيوم بمعدل ١-٣ملليمولر. هذا العنصر مهم لبناء الكلوروفيل وبناء البروتين ويساعد الماغنسيوم في توازن الكاتيونات والأنيونات وفي تفاعلات ال ATP .

أما العناصر الصغرى فهي أيضاً من الأهمية بمكان ولكنها مطلوبة في الأوساط الغذائية للنبات بكميات قليلة (ميكرومولر μM) وأحياناً تسمى عناصر نادرة وتضاف بصورة مركبات.

المانجنيز (Mn)

يضاف إلى بيئات الأنسجة بصورة مركب كبريتات المانجنيز وبتركيزات بين 5-30 μM هو مهم للتخفيف من حالات التأكسد في عمليات البناء الضوئي للنبات وهو مهم في تركيب أغشية البلاستيدة الخضراء (الكلوروبلاست) وفي استحثاث العديد من الإنزيمات. نقص هذا العنصر في بيئات الأنسجة يؤدي إلى ابيضاض الأوراق وتساقطها في الأنابيب. بينما زيادته تؤدي إلى تبرقش الأوراق.

البورون (B)

يضاف إلى البيئة كحمض بوريك يساعد الخلايا على امتصاص الكالسيوم وبناء البكتين وبالتالي بناء جدر الخلايا. هذا العنصر مهم لمعظم العمليات الحيوية بالخلايا مثل الانقسام والتميز والبلوغ. نقصه يؤدي إلى تشكل قمم ورقية بيضاء وموت قمم الجذور.

الموليبدنم (Mo)

يضاف إلى البيئة في صورة موليبدات صوديوم بتركيز لايتعدى 0.1µM وجوده مهم لبعض الإنزيمات التي تحول النترات إلى أمونيوم ونقصه يودي إلى الموت القمي للأوراق وإلى التفاف حواف الأوراق .

الزنك (Zn)

تتطلب معضم النباتات النسيجية من 5-30 µM من سلفات الزنك . هذا العنصر مهم لإنتاج الأكسين وفاعلية الإنزيمات وبالتالي تكوين الكلوروفيل .

النحاس (Cu)

يضاف عنصر النحاس على شكل مركب كبريتات النحاس بتركيز 0.1µM. يعمل كحامل إلكتروني بالنبات ويساعد في بناء الكربوهيدرات وتثبيت النيتروجين وتقليل الأكسجين.

الكوبالت (Co)

يوجد الكوبالت في معظم الأوساط الغذائية للنباتات النسيجية رغم عدم ضرورته إلا أن الأبحاث تشير إلى دور غير مباشر حيث يمنع فاعلية الأكسينات والسيتوكينينات وتثبيط دور الإيثيلين في مراحل معينة وبالتالي يحد من التساقط والشيخوخة في نباتات الأنابيب.

المواد العضوية Organic supplements

الفيتامينات

تنتج معظم أنسجة النباتات كميات من الفيتامينات في خلاياها إلا أن الخلايا أو الأنسجة أو الأعضاء النباتية المزروعة في الأنابيب قد لاتستطيع توفير الكميات المناسبة والكافية من الفيتامينات خاصة الثيامين (فيتامين B1) والنياسين (حمض النيكوتين) والبيرودكسين (فيتامين B6) فيكون من اللازم إضافتها. كل من هذه الفيتامينات له دور في عمليات البناء والهدم والنقل داخل الخلايا وأبرز دور للثيامين هو العمليات الحيوية

للكربوهيدرات وبناء الأحماض الأمينية أما البيرودكسين فيدخل في تنظيم البروتين أما النياسين فيدخل في عمليات نقل الهيدروجين والإلكترونات. الإينوسيتول يدخل في بناء الدهون الفوسفاتية وفي بناء البكتين في جدار الخلية. الفيتامينات الأخرى مثل الريبوفلافين (فيتامين B2)، والبيوتين (فيتامين H)، وحمض الستريك (فيتامينC) وغيرها قد لاتكون ضرورية في أغلب الأحيان وعموماً فإن الفيتامينات إجمالا تضاف بكميات قليلة جداً. كما يصنف الميواينوسيتول كفيتامين وهو سكر كحولي يضاف إلى كثير من الأوساط المغذية لاستحثاث النمو خاصة في النباتات وحيدة الفلقة لاستحثاث الكالس بينما لاتحتاجه النباتات الأخرى، وهو يضاف بكميات تصل إلى ١٠٠ مليجرام / لتر. ويعتمد تشكل الخلايا النسيجية ومرحلة نموها على مأيضاًف للبيئة المغذية من تلك العناصر التي يلعب تركيزها في طبيعة التشكل والتميز في النبات النسيجي سواءً كان خلية أو عضو.

الأحماض الأمينية

تعتبر الأحماض الأمينية مصدراً للنيتروجين العضوي، مثل: الجلوتامين، والسيرين والبرولين، وبعضها يدخل في تركيب الكلوروفيل، مثل: الجلايسين الذي يعتبر أكثر الأحماض بساطة وشيوعاً في الاستخدام. ويعتبر السيستايين مضاد مهم للأكسدة خاصة مع الأنسجة التي تنتج فينولات لأنه يعمل على تقليل الاسوداد.

الكربوهيدرات

يعتبر السكر من المواد العضوية الأساسية التي تضاف للوسط الغذائي كمصدر للطاقة والكربون. وأكثر السكريات استخداماً هو السكروز وهو يتحول أثناء التعقيم الحراري أو أثناء العمليات الحيوية للنبات إلى جلوكوز وفركتوز. كما أن السكر يدخل في نسبة عالية في التنظيم الأسموزي وبالتالي الامتصاص. يستخدم السكر في تركيبة البيئة بمعدل ٢٠-٤٠ جرام / لتر، ويعتبر التركيز مابين ٣٠ إلى ٤٠ جرام / لتر مناسب للنخيل ولكثير من النباتات.

منظمات النمو

غالباً تسمى هذه المنظمات هرمونات . وهي مواد لها دور أساسي في تنسيق النمو والتميز في خلايا وأنسجة النبات النسيجي . تضم الهرمونات خمسة أصناف بناءً على دورها في العمليات الحيوية للنبات وهي :

الأكسينات: تعمل الأكسينات على استطالة الخلايا ، انقسام الخلايا ، التشكل الجنيني، تنشئة الجذور، ويشترك كل من الأكسينات والسيتوكينينات في توازن مهم للتحكم في توجه النمو من تكوين الجذور إلى نمو السيقان والأوراق .

تضم الأكسينات مجموعة من التركيبات بعضها طبيعي وبعضها صناعي وتضاف بتركيزات محدودة تتراوح بين (٠,٠٠١ إلى ١٠ ملليجرام / لتر). من أشهر الأكسينات في الأوساط الغذائية النباتية إندول حمض الخليك IAA ولكنه من أضعفها إذ يتاثر بالأستخدام لفترة قصيرة وتقل فاعليته بينما تطول فاعلية أكسينات أخرى، مثل: 2,4-D ، NAA ، IBA، و CPA.

السيتوكينينات: وهي مركبات مساعدة لها دور في انقسام الخلايا في زراعة الكالس. تستحث هذه الهرمونات تكوين البراعم العرضية في مراحل التضاعف . من هذه الهرمونات ماهو طبيعي مثل الزياتين zeatin والأيزوبنتيل أدينين 2iP. وهذين المنظمين تواجدهما قليل ومكلف وتأثيرهما بالبيئة النباتية لايطول لذا يستعان بمنظمات صناعية مشابهة في التأثير مثل الكايناتين kinetin وبنزيل أمينو بيورين BAP وبنزيل أدنين BA وهذا الأخير أكثر تأثيراً. تضاف السيتوكينينات بتركيزات تتراوح بين (٠,١ إلى ١٠ ملليجرام /لتر).

الجبريلينات: هي عبارة عن منظمات نمو طبيعية تدخل في عمليات بناء خلايا النبات في الأنابيب من أهمها استطالة السيقان . تعتبر أقل استخداماً من الأكسينات والسيتوكينينات. من أهم الجبريلينات ال GA3 (حمض الجبريلينات) وهو الأكثر

شيوعا ثم ال GA4 وال GA7. يتأثرال GA3 بحرارة التعقيم ويفقد فاعليته. لذا فإنه يضاف بعد التعقيم عن طريق الفلترة الدقيقة لمنع الملوثات الميكروبية.

حامض الأبسيسك ABA: هذا المنظم نادر الاستخدام إلا في مراحل التشكل الجنيني من الكالس وفي الأوساط المستخدمة للنباتات الخشبية.

الفحم المنشط: يعتبر الفحم مادة عضوية تستخدم في أوساط البيئة النسيجية لامتصاص المواد السامة والضارة بخلايا النبات، مثل: الفينولات المؤكسدة والأصباغ الخارجة من الخلايا كما يمتص زيادات بعض المواد العضوية، مثل: الفيتامينات، والهرمونات، والحديد، والزنك. يضاف الفحم المنشط بكميات تترأوح بين (٠,٢ إلى ٣ جرام / لتر). كما أن الوسط المظلم للفحم في البيئة المغذية يهيئ لتكوين الجذور.

المواد الداعمة: يعتبر الأجار من أهم المواد الداعمة التي توفر بيئة صلبة أو شبه صلبة ترتكز عليها أنسجة النبات أو أعضاءه داخل الأنابيب . يتميز الآجار بأنه لايتفاعل مع أي من المواد الداخلة في تركيب بيئة الوسط الغذائي ولا يتحلل بالإنزيمات الناتجة من خلايا وأنسجة النبات . يدخل في تركيب الآجار بعض المواد غير المرغوبة مثل: بعض الاملاح والفينولات والأحماض الدهنية، إلا أن هذه المواد ليست ضارة ويمكن غسل الأجار لإزالتها . يضاف الاجار بكميات تترأوح مابين (٠,٥ إلى ١ ٪) . وغالباً يفضل استخدام ٧ جرامات / لتر في مراحل تكوين الكالس ويخفف إلى ٥ جرامات في مرحلة تكوين الأجنة. من المواد الأخرى الأجاروز والعلك الجيلي ولكنها ليست دارجة كثيراً. كما يمكن استخدام قطع إسفنجية كمادة داعمة خاصة في مراحل التضاعف للسيقان الورقية.

المضادات الحيوية: وهي عبارة عن مواد طبيعية تنتج من بعض الكائنات الدقيقة الميكروبية وتنتج صناعياً ومخصصة لتثبيط أو القضاء على بعض الميكروبات (الفطريات والبكتريا) التي تنمو في الأوساط الغذائية بالأنابيب.

المواد المعقمة

يعتبر التعقيم الحراري بأجهزة الأتوكليف والذي تعامل به الأوساط الغذائية قبل استخدامها وتعقم به الأدوات المستخدمة في الزراعة النسيجية أساس عمليات التعقيم وتعامل الأوساط الغذائية بالتعقيم على درجات حرارة متوسطها ١٢١ درجة مئوية لمدة ١٥-٢٠ دقيقة، إلا أن المواد الحية وبعض المواد العضوية تتطلب تعقيماً سطحياً بمواد كيميائية ضرورية للقضاء على الملوثات الميكروبية التي تنمو على خلايا النبات وتحين لها الفرصة للتضاعف والتكاثر عندما تزرع الخلايا أو الأنسجة في بيئة مغذية. غالباً مايستخدم مبيض الملابس كمصدر للكلورين المعقم أو هيبو كلورايت الصوديوم أو كلوريد الزئبق مع نقط من tween 20 لتساعد على اختراق الكلورين لخلايا النبات وتثبيط الملوثات، ومن ثم تشطف الأنسجة بماء مقطر ومعقم لغسيل المادة المعقمة وذلك تحت جهاز الكابينة الحيوية.

درجة الحموضة pH

تلعب درجة الحموضة دوراً بارزاً في استحثاث أو تثبيط النمو في الأوساط المغذية، حيث تؤثر البيئة القاعدية أو الحامضية في امتصاص النيتروجين وغالباً تستخدم درجة حموضة ٥,٦ لمعظم النباتات إلا في حالات دراسية معينة ومحدودة.

التحضين

تتطلب النباتات النسيجية رعاية خاصة لاستحثاث نموها يتمثل في التحكم بالعوامل الفيزيائية المحيطة حول النبات . فدرجة حرارة غرف النمو المستخدمة للتحضين تؤثر بتناقص نمو النبات عند انخفاض درجة الحرارة بينما يتوقف النمو عند ارتفاعها عن الحرارة المثلى للنبات (لمعظم النباتات ٢٥° م±١) . وتتطلب النخيل درجة أعلى ٢٧° م±١ لكونها طبيعياً تنمو في هذا المعدل وقد تحتاج النباتات إلى درجة أعلى في مرحلة التجذير لإسراع النمو.

ويعتبر الضوء في مرحلة التحضين عامل أساسي في النمو حيث يحدث في البناء الضوئي للنبات تحول الطاقة الضوئية إلى طاقة كيميائية ويؤثر الضوء بثلاث طرق هي: طول الموجة الضوئية (400-700nm) وشدة الإضاءة والتي تترأوح من ١٠٠٠ إلى ٣٠٠٠ لكس حسب مرحلة النمو بالأنابيب، وفترة الإضاءة غالباً ما تكون ١٦ ساعة إضاءة و٨ ساعات ظلام للنباتات النامية، بينما لا تعرض النباتات في مرحلة الكالس والكالس الجنيني إلى أي إضاءة لانها لاتحتوي على أي صبغات.

الجودة النوعية لنخيل الأنسجة

تعتبر عمليات الزراعة النسيجية أحد أساليب الإنتاج المكثف وبالتالي فإنها شبيهة تماماً بخطوط الإنتاج بالمصانع وعلى المنتج أن يقوم بعمليات فرز للمنتجات خلال عمليات التقسية في المشتل واستبعاد النباتات الشاذة وغير المألوفة . كما يمكنه تطبيق تقنيات أكثر دقة من خلال فحص المادة الوراثية أو ما يعرف بالبصمة الوراثية DNA Fingerprinting وذلك لضمان جودة المنتج ومطابقته للأمهات (شكل٩) . وتتم هذه العملية بجمع عينات من أوراق النخيل مثلاً وهي الأوراق غير البالغة لتسهيل فصل المادة الوراثية وتلافي الشوائب. وتؤخذ هذه العينات من الأم كمصدر وراثي حقيقي ومن العينات النسيجية المراد اختبارها. تعامل هذه العينات باستخلاص المادة الوراثية بتعريضها للتجميد بالنيتروجين ثم طحنها بمدقة وهأون. توضع المستخلصات في حأويات دقيقة وتعادل حموضتها ثم تضاف لها مادة أيسوبروبانول لفصل ال DNA من السائل وترسيبه وطرده مركزياً، تجفف العينات وتجمد عند درجة ٢٠ تحت الصفر المئوي. تعرض العينات لتفاعل ال PCR لمضاعفة المادة الوراثية. تعامل العينات بعد ذلك للفصل الكهربائى Electrophoresis وفيها يعد خليط من هلام الأجاروز مع صبغة الإيثيديوم بروومايد وتحقن في فتحات يضعهامشط الجهاز ويجرى سريان العينة عند تيار كهربي شدته ٨٠ فولت ويترك لمدة ساعة يؤخذ بعدها الهلام للتقييم الكمي والتحليل باستخدام أنظمة تحليل إحصائي خاصة.

صعوبات إكثار نخيل الأنسجة

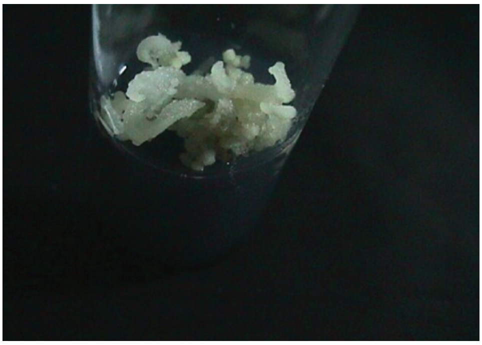
تعاني الكثير من النباتات وخاصة الخشبية منها من بطء نموها وتعرضها لبعض المشاكل أثناء زراعتها في أنابيب الزراعة النسيجية *In Vitro* وبعد زراعتها في الصوب أو الحقل *In Vivo* هذه المشاكل تواجه أيضاً نخيل التمر عند إكثاره نسيجياً وتتعدد عوائق نمو هذا المحصول بدءاً من زراعته في الأنابيب حيث يواجه مشاكل عديدة مثل التلوث Contamination (شكل ١٠)، الإسوداد Blackening (شكل ١١). التزجج (تحول النسيج إلى ما يشبه الزجاج) Vitrification (شكل ١٢)



شكل (١٠) مشكلة التلوث في الأنابيب .



شكل (١١) مشكلة الإسوداد في الزريعات داخل الأنابيب.



شكل (١٢) مشكلة التزجج على سطح البادئات المزروعة في الأنابيب.



شكل (١٣) مشكلة النمو غير الطبيعي في النخيل النسيجي في الحقل.



شكل (١٤) مشكلة الشيص وعدم نجاح العقد في نخيل النسيجي في الحقل.



شكل (١٥) مشكلة التقزم في النخيل النسيجي في الحقل.

وخارج الأنابيب عندما تزرع البادرات في الحقل فأنها تواجه مشاكل النمو غير الطبيعي abnormality (شكل ١٣)، الشيص Fruit set failure (شكل ١٤)، التقزم Dwarf plants (شكل ١٥). هذه العوائق سواءً داخل أو خارج الأنابيب قد لا تكون مرئية إلا للباحثين أو العاملين في مجال الزراعة النسيجية أو مربي النخيل وهي بلا شك تعتبر من أبرز سلبيات تقنية زراعة الأنسجة التي تواجه المستثمرين ولأهمية هذه العوائق نورد بعض المعلومات عن كل منها :

التلوث Contamination

نظراً لكون النباتات مصدراً للمادة المزروعة في الأنابيب Explant وتحتوي الكثير من الملوثات البكتيرية والفطرية والفيروسية وغيرها ، ولكونها تزرع في بيئة غذائية مناسبة لنمو هذه الملوثات فإنها ما أن تزرع حتى يتضح تلوث البيئة ببعض أو كل الميكروبات التي تحتويها . من هنا تأتي أهمية التعقيم السطحي للمصدر النباتي قبل استزراعه في الأنابيب ولحساسية المصدر النباتي للمعقمات فإن لكل نبات درجة تحمل معينة يجب اختبارها من حيث مدة التعريض للمعقم ودرجة تركيزه للحصول على أعلى كفاءة تعقيم والتخلص من الملوثات . ونمو وتميز أنسجة المصدر النباتي خلال أسبوع إلى أسبوعين في الوسط الغذائي دليل على نجاح عملية التعقيم، إلا أن ذلك لا يعني بالضرورة التخلص من كل الملوثات خاصة الفيروسية منها والتي غالباً ما تكون داخل أنسجة النبات endophyte والتي يتقلص خطرها بعد إعادة استزراع المصدر النباتي لمرتين أو أكثر داخل الأنابيب وقد يكون المصدر النباتي لنخيل التمر الذي يمثل البرعم الطرفي (الجمارة) بعد إزالة ما حوله من قواعد الأوراق وتقليص حجمه ثم تعقيمه ، ومن ثم تجزئته ما يجعله أقل مصدراً للتلوث من براعم النباتات الأخرى التي تعقم كاملة ويبقى مصدر الخطر في التلوث من مصادر أخرى (هواء – أجهزة – أدوات – عامل ، ...الخ) . وعموماً أصبح من الميسور جداً التخفيف من مشكلة التلوث مع أخذ الاحتياطات الدقيقة من قبل العاملين في هذه التقنية، واختيار المعقمات المناسبة وبالتركيزات المختبرة .

مصادر التلوث متعددة أهمها بيئة المختبر والحاضنات (غرف النمو) حيث تتراكم الملوثات مع تكرار دخول العاملين ، ولتلافي ذلك ينصح بالتعقيم كل أسبوعين بحد أدنى ويفضل أن تكون رفوف الغرف التي تجلس عليها الأنابيب غير مصمته (مثقبة أو على هيئة شبك) لتقليل سطح تجمع الملوثات وللسماح بالتهوية داخل الحاضنة.

كذلك تعتبر وحدات الكابينات الحيوية مصدراً للتلوث إذا لم تعامل بالتعقيم السطحي الكافي أو لم تجرى لها الصيانة الدورية من تغيير الفلاتر وإختبار نقأوة الهواء داخلها. أيضاً الفني العامل في الزراعة تحت الكبينة الحيوية يكون مصدرا للتلوث إذا لم يأخذ الاحتياطات الآمنة اثناء الزراعة أو أثناء التعقيم. عملية التعقيم الحراري أو الكيميائي من اهم الاحتياطات التي يجب مراعاتها في تدأول مواد الزراعة النسيجية سواءً مواد حية أو أدوات وأي خلل فيها مثل عطل المعقم الحراري أو عدم دقته أو عدم كفاءة العامل في تشغيله يؤدي إلى التلوث، كذلك تركيزات المعقمات الكيميائية وصلاحيتها من أهم عوامل نجاح عملية التعقيم وتلافي التلوث.

اسوداد المصدر النباتي Blackening of Explant

عندما تتعرض الأجزاء النباتية المستزرعة من المصدر النباتي للقطع فإن المركبات الفينولية المؤكسدة تظهر على أسطح الأجزاء المقطوعة نتيجة لعمليات فسيولوجية تسمى Tyrosinase. والمركبات الفينولية المؤكسدة ترتبط بالبروتينات مثبطة بذلك النشاط الإنزيمي مؤدياً إلى تدهور الجزء النباتي (Alderson 1986) وبرعم النخيل بما يحتويه من كربوهيدرات تتأكسد وتتلون باللون البني بمجرد القطع والتعريض لمحاليل التعقيم السطحي إلا أن ذلك يمكن تلافيه ببعض الأحماض المضادة للأكسدة، مثل: حمض الستريك والأسكوربيك إلا أن ظاهرة الاسوداد تحدث أحياناً بعد استزراع الجزء النباتي في الأنابيب وهذه حالة لوحظت سابقاً في النخيل ولكنها أقل بكثير من النباتات التي تكون طبيعتها خشبية (Zaid, 1984). وقد لوحظ أن هذه الظاهرة تقل مع الاستزراع المتكرر وتجديد الوسط الغذائي وإزالة الأجزاء المتلونة .

التزجج Vitrification

تنشأ بعض الأنسجة المستزرعة بنموات مائية تشبه الزجاج ، خلايا هذه الأنسجة تكون غير مؤهلة للتميز أو تكوين خلايا كالس أو أجنة مما يجعل منها نمواً غير طبيعياً . يتسبب في مثل هذه الحالة الإجهاد الذي تواجهه الأجزاء النباتية وتعرضها للإيثيلين ومن أبرز الأسباب هو تعرض هذه الأجزاء للكلورين أثناء عمليات التعقيم السطحي واستخدام تركيزات عالية من السيتوكينين BAP. كما أن للتركيز العالي من أيونات الأمونيوم دوراً في ظهور هذه الظاهرة خاصة في توفر الماء في الوسط الغذائي . وظاهرة التزجج في الزراعة النسيجية للنخيل لوحظت في كثير من المعامل بالمملكة إلا أنها ليست بالدرجة التي نشرت عن كثير من النباتات الأخرى وقد يعود ذلك إلى الظروف البيئية المثلى التي تهيأ للمزارع النسيجية، كما يشير (Debergh 1986) إلى أن التبريد التحتي للأنابيب يساعد في تخفيض هذه المشكلة بتقليل كثافة بخار الماء في أعلى الأنابيب .

النمو غير الطبيعي Abnormal growth

عندما تنقل بادرات النخيل من المزارع النسيجية إلى المشتل أو الحقل فإنها أحياناً تظهر بمظهر غير مألوف يتمثل في عدم انتظام القمة النامية بضمورها أحياناً، أو انحنائها إلى الأرض أحياناً أخرى يصاحب ذلك نمو عدد كبير من الفسائل والرواكيب المصاحبة للنخلة المزروعة – هذه الظواهر مشاهدة في كثير من المزارع وفي كثير من الأنواع قد تكون لسيرة النمو السابقة لهذه الفسائل وتعرضها لمنظمات نمو مختلفة وكيمأويات وفيتامينات أدى إلى تهيج الخلايا النامية في ظروف الحقل بعد توفر أسباب النمو الملائمة وقد تكون نتيجة الإصابة بفطر Paradoxa Ceraticysitis أو فطريات أخرى التي تسبب انحناء القمة النامية أو ما يسمى مرض شذوذ القمة في البرحي (عبدالقادر ومحمد ١٩٩٧) وتحتاج مثل هذه الظواهر إلى دراسة وتحليل للتأكد من الأسباب ، إلا أن المنتجين يجب عليهم لتلافي هذه الحالات أن يتبنوا تقنية الفرز عند التسويق حيث أن بعض حالات النمو غير الطبيعي قد تظهر مبكرة يمكن ملاحظتها بفحص الفسائل بحرص قبل تسويقها .

النخيل المتقزم Dwarf palms

تشكل مشكلة التقزم في نموات نخيل الأنسجة نسبة تتجأوز ١٠٪ أحياناً وبما أن هذه الظاهرة غير واضحة في النخيل العادي، فإن الباحثين يعزون وجود هذه الظاهرة إلى مرحلة النمو في الأنابيب، وما يصاحبها من تعريض النباتات إلى حاثات ومثبطات نمو كثيرة وقد تكون هذه النباتات تعرضت بعض أجزاءها مثل الجذور إلى عوائق تكوين أو نمو مما جعلها غير كافية لنمو النخلة مما يحد من عمليات الامتصاص وتغذية النخلة أو قد يكون التثبيط لبرعم النخلة المتمثل في القمة النامية وفي كلا الحالتين يمكن استخدام بعض منظمات النمو لعلاجها أو رش أوراق النخلة ببعض المغذيات وتكرار ذلك مع وضع بعض المبيدات الحشرية المناسبة في تربة النخلة وتسقيتها، إلا إذا تعدى الأمر ذلك وتثبيت صحة بعض الافتراضات العلمية من أن الأشجار المتقزمة طفرات وراثية فهذا يتطلب دراسة مستفيضة .

الشيص Fruit Set Failure

تعتبر ظاهرة الشيص أو تعدد الكرابل ظاهرة واضحة في نخيل الأنسجة خاصة في نوع البرحي ويتوقع أن تكون عوامل التحور الوراثي في المراحل المتقدمة من إعادة الاستزراع في الأنابيب مع وجود الحاثات الهرمونية سبباً لتكون هذه الظاهرة، إلا أن ذلك مجرد افتراضات علمية استندت على بعض التحاليل التي لا زالت تحتاج إلى دراسة عميقة وشاملة . وظاهرة الشيص تحدث في حالات عدم التوافق بين الزهرة المذكرة والمؤنثة في النخيل وبالتالي عدم إخصاب الأزهار مما يجعل الكرابل الثلاث أو أكثر تنمو مكونة ثمار متعددة بما يسمى الشيص وهذا يعني أن نوعية الثمار المتكونة ذات جودة منخفضة جداً. وعدم الإخصاب في النخيل ليس دليلاً قاطعاً على الاختلاف الوراثي والعكس صحيح فقد يكون هناك اختلاف وراثي ومع ذلك تلقح النخيل وتخصب . ولكون هذه الظاهرة حديثة الملاحظة ومحدودة في جيل معين من نخيل الأنسجة وبالذات في البرحي فإن الحكم على

مصدر هذه المشكلة لا زال محل نظر الباحثين ويحتاج إلى دراسة شاملة ودقيقة.

ومع وجود هذه المشاكل والصعوبات في تطبيق تقنية زراعة الأنسجة على النخيل أو غيره فإنه لازال هناك الكثير من المشاكل التي لم تستعرض كما أن هناك من الإيجابيات والسلبيات الكثير وهذه المشاكل لم تحد من الإنتاج المتميز لكثير من أنواع النباتات وبالذات النخيل فقد أنتجت فيه أعداد هائلة ومنتجة ومطابقة للأمهات. ولا يمكن أن تخلو أي عملية إنتاجية من المميزات والعيوب ، ومميزات هذه التقنية عديدة تزيد من أهميتها لمستقبل الزراعة في هذا الوطن المعطاء.

مراحل النمو في نخيل الأنسجة وأشكاله

الزراعة النسيجية بحر واسع من التقنيات وتعتمد على المصدر الذي تبدأ من عملية الزراعة بما يسمى ال Explant فالخلية هي أساس التكاثر في النبات أيّاً كان مصدرها وتستحث هذه الخلية مفردة single cell أو مع مجموعة خلايا بما يسمى النسيج Tissue أو مجموعة أنسجة بما يسمى العضو Organ.

الغالب في النخيل أننا نستخدم عضو إكثار هو البرعم الطرفي للنخلة وبالتحديد القمة النامية وبشكل أدق الجزء المرستيمي منها.

يفضَل عنصر التكاثر هذا لما في خلاياه من ميزة التكشف والنمو ، يخضع هذا الجزء للتعقيم السطحي الكيميائي المناسب ثم يشطف بماء مقطر ومعقم ويعامل بتركيزات من أحماض الستريك والأسكوربيك للحد من الأكسدة ثم يجزأ إلى قطع نسيجية تحضن في أنابيب تحتوي على البيئة المناسبة لهذه المرحلة.

بعد التحضين لمدة تتراوح مابين٤٠ إلى ٦٠ يوماً تنقل الأنسجة إلى بيئة جديدة subculture لتفعيل دور منظمات النمو مثل أكسين 2,4-D وتكرر العملية لحين تكون خلايا سرطانية على أسطح الأنسجة تسمى الكالس وهذا يتطلب تغييراً للبيئة من حيث محتواها من منظمات النمو حيث يستبعد ال 2,4-D ويزاد تركيز أكسينات أخرى مثل

ال IAA أو NAA لاستحثاث مايسمى الكالس الجنينى، تغير البيئات في هذه المرحلة وتفعل منظمات النمـو المناسبة بزيـادة تـركيزهـا حسب الـدور المناط بها (انظر دور منظمات النمو) لتكوين الأجنة، جميع المراحل السابقة يتم تحضين الأنابيب في الظلام. بعد اكتمال نمو مجموعة من الأجنة في الأنابيب يتم حصادها (جمعها) وتنقل إلى بيئة جديدة تستحث اكتمال نموها واستطالتها من خلال إضافة بعض المنظمات المناسبة مثل الجبريلينات GA3. هذه المرحلة تتطلب فيها الأجنة إضاءة حيث يتوقع أن تبدأ فيها عمليات التميز للخلايا وتكوين الكلوروفيل لتفعيل عمليات البناء الضوئي.

تبدأ هذه الأجنة بالاستطالة والنمو وهي غالباً ماتكون أجنة مستقلة أو أجنة حاملة لأجنة أخرى أو أجنةٍ مضاعفة تستطيل لفترة تترأوح مابين ٣-٤ شهور ليكون الوقت مناسباً لتفريدها وتجديد بيئاتها بإضافة بعض المنظمات المستحثة للتنشيط وتكوين الجذور مثل الأيزوبنتيل أدينين 2ip و NAA والمهمان لتكوين الجذور.

تحضن البادرات المجذرة مستقلة في أنابيب لمدة لاتقل عن ٣ شهور لتقوى وتصبح جاهزة للنقل في وسط مغذي سائل يسمى محلول هوجلاند تترك فيه البادرات من أسبوعين إلى شهر ليتم بعد ذلك نقلها إلى أصص صغيرة تحوي تربة مخلوطة من البيتموس والرمل المغسول ويفضل تعقيم التربة حراريا لضمان خلوها من الملوثات خاصة الفيوزاريوم .

تحضن البادرات في الأصص في حأويات كبيرة وتغطى بطبقة من البلاستيك للمحافظة على المحتوى الرطوبي حول البادرات لتتأقلم تدريجياً مع التأكد من حصولها على درجة وفترة من الإضاءة الإضافية الكافية. بعد تأقلم البادرات لشهر أو شهرين يمكن نقلها لمشتل مناسب لحضانة أخرى في المشتل لمدة ٦ أشهر تكون فيها النخيلات قاعدة وجذور وسعيفات تؤهلها للنقل للحقل.

نماذج من النخيل النسيجي

تعتبر عملية استنساخ النخيل أو إكثارها نسيجياً عملية مكلفة فنياً ومالياً ولا تجرى إلا لأهداف علمية موجهة للحصول على نتائج معينة أو تطبق لأغراض تجارية بعد دراسة

الجدوى والمردود الاقتصادي منها . لذا بدأت فكرة إنتاج النخيل نسيجياً منذ ثلاثة عقود مع بدايات الثمانينات الميلادية عندما كانت أسعار فسائل النخيل محلياً تصل إلى عشرة الآف ريال أو أعلى للنخيل المنقول وساهمت هذه التقنية في توفير العرض وارتفاعه على حساب الطلب المتناقص إلى أن وصلت كثير من الفسائل إلى أقل من ٥٠٠ ريال خلال العام ٢٠٠٨م وزاد الطلب نسبياً على نخيل الأنسجة نتيجة التخوف من نقل الفسائل لما فيها من خطر الإصابة بسوسة النخيل الحمراء والأمراض الأخرى التي تنتقل بسهولة مع التدأول التقليدي للفسائل. ونظراً لما توفره تقنية نخيل الأنسجة من ضمان للخلو من الأمراض باتت قناعة المزارعين والمستثمرين تتزايد مع تحسن أداء المختبرات المحلية. الطلب على النخيل من حيث النوع يتمثل في أنواع النخيل النادرة مثل الأنواع المبكرة (كويري و أم الحمام) أو المتأخرة مثل المصيفة والهلالية أو الأنواع التي يزداد الطلب عليها ولها قيمة سوقية، مثل: الصقعي والسكري والخضري . وتعتبر بقية الأنواع متوسطة الطلب .

مواصفات بعض أنواع النخيل النسيجي

أم الحمام

من نخيل منطقة القصيم التي انتشرت في بعض المناطق، مثل: الخرج، وسدير. وهي من النخيل المبكرة النضج التي تصلح للتسويق والاستهلاك كفاكهة طازجة(خراف) Fresh Dates حيث تتسم بحجمها المتوسط، ولونها الأصفر المبيض، وهشاشة الثمرة وعدم احتوائها على مواد قابضة (عفصية) وبرودة الثمرة. موسم الإثمار يبدأ في شهر يونيو ويستمر صيفاً إلى شهر سبتمبر لينتهي موسمه وقليل مايصلح للكنز.



شكل (١٦) صنف أم الحمام Um alhamam خلال مراحل النضج من الخلال إلى التمر ومتوسط مقاس تموره تقريباً 3.6 × 2.4 cm

الكويرية

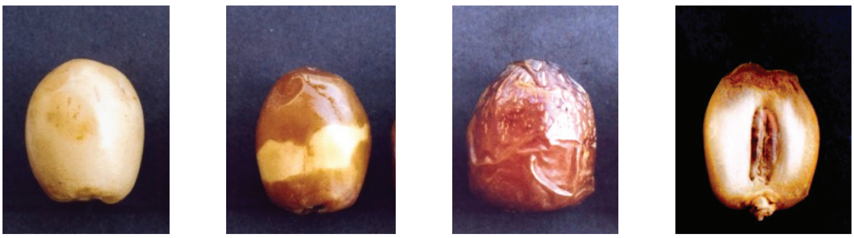
أيضاً من نخيل منطقة القصيم إلا أنها محدودة الانتشار في غيره وهي شبيهه بأم الحمام وكثير من الناس يخلط بين هذين الصنفين لتشابههما باللون والنضج إلا أن هذا الصنف يمتاز بلونه الأكثر صفرة وبزيادة محتواه الرطوبي (الدبس) وبحرارة الثمرة وعدم هشاشة البسر أو الخلال. موسم اثمار الكويرية شبيه تماماً بأم الحمام التي تسبق الكويرية بأسبوع إلى أسبوعين. والكويرية من النخيل رفيعة الساق وأقل استطالة من السكري.



شكل (١٧) صنف الكويرية Koweriah خلال مراحل النضج من الرطب إلى التمر ومتوسط مقاس تموره تقريباً 3.6 × 2.4 cm

الهلالية

صنف متأخـر النضج منتشر فـي معظم المناطق بالمملكة والخليـج العربي ويبدا جنيه في أواخر شهر يوليو معتمداً على المنطقة ويستمر حتى الشتاء في شهر نوفمبر إلا أن بعض أنواعه تصبح غير مناسبة للاستهلاك عندما يدخل البرد وتصبح البسر أو الخلال متخشبة ومتشققة. لون الثمرة أصفر مبيض و يؤكل بسرا (خلال) ويكون هشاً أو ليناً عندما يبدأ بالعينة أو النضج المبكر، حيث تزداد حلأوته ويزداد الإقبال عليه من قبل المستهلكين ويعتبر تأخره ميزة للاستهلاك الطازج المتأخر. يصف المزارعون نوعين من صنف الهلالية أحدهما يسمى اللؤلؤي وهو الأفضل، والآخر يطلق عليه الصيني. يصف البكر (١٩٧٢) في كتاب النخيل الهلالية بأنها من النخيل غليظة الساق نشيطة النمو.



شكل (١٨) صنف الهلالية Hilaliah خلال مراحل النضج من الخلال إلى التمر
ومتوسط مقاس تموره تقريب 3.4 × 3 cm

المصيفة

صنف متأخر جديد بدأ في غرب وجنوب منطقة الخرج والحوطة ونشأ من طفرات نباتية (نبوت) إلا أنه تميز بتأخره مع استمرار محافظة الثمار على القوام والليونة والطعم اللذيذ وعدم التخشب بدخول البرد كما في الهلالي ومقأومته للفطريات أيضاً أفضل من الهلالي . تتميز المصيفة عن غيرها من النخيل المتأخرة أنه كلما تأخرت كلما أصبحت ثمارها أفضل إلى نهاية نوفمبر وأحياناً النصف الأول من ديسمبر. النخلة تتميز بنشاط في نمو الجذع والاستطالة وتكوين الفسائل، وكلما ارتفعت عن الارض تحسنت ثمارها

وانتظمت وقد يكون ذلك لارتفاعها عن مصدر الحرارة الأرضية . عذوق المصيفة قصيرة الحوامل لذا تجد أن القنوان الحاملة للتمر تكون متراصة وقريبة من قواعد السعف الدائر على قلب النخلة لتبدو وكأنها عقد واحد متراص يتراوح عددها من ٥-١٠ عذوق لتعطي أفضل إنتاج ووزن العذوق يقل عن الهلالي والبرحي. هذا الصنف لازال غير معروف على مستوى المملكة ولكنه متعارف عليه في منطقة الخرج والإقبال عليه يزداد. تمرة المصيفة شبيهة تماماً بأم الحمام فهي صفراء مبيضة مبرومة من طرفها حول القمع بلون يميل للبني الفاتح جداً قمعها خفيف سهل الإزالة هشة لينة مستساغة باردة قليلة الرطوبة وبذرتها (الفصم) صغيرة وخفيفة. تتساقط ثمارها عند تأخر جنيها طازجة . يمكن تمييز نخلة المصيفة ببعض التبقع البني على السعف وكذلك بوجود ألياف بنية حول سعف القلب تبدو وكأنها طلع جديد. أمكن إنتاج المصيفة نسيجياً وتميزت بنجاح عملية إكثارها ومطابقتها للأمهات (Al-Khalifah 2000).



شكل (١٩) صنف المصيفة Mosaifah خلال مراحل النضج من الخلال إلى التمر ومتوسط مقاس تموره تقريباً 4.4 × 2.6 cm

السكري

من الأصناف المتميزة بجودة نوعية تمورها وقيمتها السوقية العالية وهي من النخيل الحساسة للبيئة إذ جغرافيا تعتبر من نخيل منطقة القصيم ولم تنجح نوعياً بالمناطق الأخرى. وتعتبر من النخيل المتوسطة النضج التي تجنى متأخرة عندما تكون نصف جافة للتسويق كتمر فرد أو النصف رطبة للتصنيع والكنز وقد نجح السكري نسيجياً حيث

حققت زراعة الأنسجة خفضاً لقيمة الفسائل وصل إلى ٨٠٪ من القيمة الأصلية التي كانت تباع فيه الفسائل قبل عقدين.

الخلاص

يعتبر من نخيل الدرجة الأولى بالنسبة لتمور الكنز ومصدره منطقة الأحساء إلا أنه لعدم حساسيته بيئياً حقق نجاحاً نوعياً في كل من الخرج والقصيم، وهو لازال محافظا على الطلب عليه كفسائل إذ تبلغ قيمة الفسيلة ضعف قيمة السكري تقريباً .

الصقعي

من تمور منطقة الخرج وجنوبها الذي لقي إقبالاً عليه في مناطق أخرى ويوجد منه تقريباً ثلاثة أنواع تختلف في نوعيتها حيث أن النوع اللحمي الذي يميل تمره إلى الحمره يعد الأفضل، ويشبه الصقعي السكرى في طريقة جنيه وتدأوله إذ يباع ويستهلك فرداً ومكنوزاً.



شكل (٢٠) صنف الصقعي Sigie خلال مراحل النضج من الخلال إلى التمر ومتوسط مقاس تموره تقريباً 4.2 × 2.1 cm

الأصناف الأخرى

لاتقل الأصناف الأخرى، مثل: العجوة، والمبروم، ونبتة سلطان، والخضري والرشودية، ونبتة علي وغيرها. أهمية عن الأصناف المذكورة ولكن الاهتمام بها يبقى إقليمياً.

نقل وزراعة فسائل الأنسجة

تعتبر عملية نقل وزراعة الفسائل المنتجة نسيجياً من عوامل نجاح هذه التقنية. حيث أن هناك آليات إنتاج يجب أن يتبعها المنتج (المختبر) وآليات استزراع يجب أن يتبعها المستثمر (المزارع).

المنتج

تعتبر عملية إنتاج النخيل عملية مطولة تستغرق من ٥-٨ سنوات من مرحلة الخلية إلى النخلة المناسبة للزراعة، ثم الإثمار. وبالتالي تتطلب جهداً وتكاليف يجب على المنتج التخطيط والإعداد لها بحيث يصل إليها في أقل وقت ممكن بكمية ونوعية تلبي حاجة المزارع أو المستثمر، والعملية ليست عمليه مشتلية فقط فالمربي حقيقة يتعامل مع خط إنتاج يشتمل على الكثير من المراحل التي تتطلب دقة في التعامل وحرصاً في الأداء من قبل الفنيين المختصين في هذه التقنية لذا فإن على راس عمليات الإعداد المتقن لهذه الصناعة هو اختيار الفنيين الأكفاء الموثوقين وتدريبهم على عملية إنتاج النخيل لأن النخلة كنبات مثمر متطلباتها لتكون مشابهة للأم دقيقة ومحسوبة وإلا أصبح خط الإنتاج مؤدياً إلى عدم ثبات المنتج ومحدودية في مطابقة المواصفات المطلوبة، فالشواذ من البادرات المنتجة لابد أن تستبعد من قبل المربي حتى لاتصل إلى المستثمر الذي يطمح إلى الحصول على فسائل ثابتة وراثياً ومطابقة للأمهات. يقترح في هذا السياق أن يستخدم المربي في العمر المتقدم للشتلات أصص أو قصاري لاتقل عن قطر ٣٠ سم بعمق ٤٠سم حتى تعطي الفسائل فرصة لتكون قوية ومتأقلمة. كما أن على المربي الحرص على بناء الثقة بينه وبين المستثمر بحيث تتعدى عمليات البيع والشراء إلى التثقيف والتوجيه نحو مايحقق عملية الإستثمار.

المزارع

يعتبر المزارع في هذا المجال مستثمراً وليس هأوياً فلا بد أن تكون لديه الخبرة الكافية للتعامل مع النخيل النسيجي ليحقق أعلى نسبة نجاح. ولتحقيق ذلك لابد للمزارع الأخذ بالأسباب التالية :

١- الفسائل الكبيرة تحقق نجاحاً أكبر من الفسائل الصغيرة.

٢- الحرص على الأخذ بالاحتياطات الكفيلة بعدم نقل المصادر الممرضة من حشرات أو غيره.

٣- الحرص على أن تكون الفسائل الجديدة تزرع في أماكن جديدة وليس في أماكن نخيل

مصاب أو ميت أو قريباً من أماكن الاصابة الحشرية خاصة سوسة النخيل الحمراء.

٤- التخطيط لشبكة الري والتسميد والخدمات الزراعية اللازمة قبل زراعة النخيل.

٥- استخدام مبيدات وقائية قبل الزراعة باستشارة خبير زراعي.

٦- التأكد من ري حفر النخيل وتشبيعها با لماء قبل ركز الفسائل حتى لاتتعرض الجذور للجفاف.

٧- التعامل مع عملية فصل الفسيلة من الأصص أو القصاري بطريقة تضمن الإبقاء على التربة حول الجذور متماسكة.

٨- إستخدام تربة مخلوطة من الرمل والطين والبتموس النظيف أو التربة الصفراء وتثبيت الفسائل ثم ريها.

٩- بعد أسبوعين إلى ثلاثة يمكن البدء بإعطاء الفسائل جرعات خفيفة من أسمدة مركبة.

١٠- من الضروري تفقد شبكات الري والتأكد من وصول الماء إلى كل فسيلة تلافياً للفقد.

مراجع يقترح الرجوع إليها

- ناصر بن صالح الخليفة (٢٠٠٣). الإكثار النسيجي للنخيل . سجل وقائع المؤتمر العلمي الأول لنخيل التمر المنعقد في القصيم من ١٩-٢١/رجب ١٤٢٤هـ ، صفحات : ٥٣٣- ٥٥٤، جامعة الملك سعود ـ القصيم

- ناصر بن صالح الخليفة (٢٠٠٢). دور الزراعة النسيجية في إكثار نباتات الحدائق والمتنزهات، سجل وقائع ندوة "المتنزهات العامة والحدائق ودورها في الترويح وحماية البيئة" في عمان- الأردن ، ٢٢إلى ٢٥ ابريل / ٢٠٠٢ الموافق ١٠ – ١٢ صفر ١٤٢٣هـ ص: ٢٥٥-٢٦٩.

- عبد الجبار البكر (١٩٧٢). نخلة التمر ماضيها وحاضرها، مطبعة العاني، بغداد، -

إدارة الدراسات والتخطيط والإحصاء (١٤٢٧). الكتاب الإحصائي الزراعي السنوي. وزارة الزراعة . المملكة العربية السعودية.

- إدارة الإرشاد والخدمات الزراعية (١٩٩٦). نشرة إرشادية عن حشرة سوسة النخيل الحمراء وطرق مكافحتها، وزارة الزراعة والمياه.

المراجع

- هشام عبدالقادر وصلاح الدين محمد (١٩٩٧). أمراض النخيل "المشاكل، تشخيص الأمراض ، الوقاية والعلاج". دار المريخ – الرياض.

Al-Khalifah , N.S. (2000). In vitro culture studies on Date palm (Phoenix dactylifera L.) cvs Mosaifah and Nabtat Sultan. Plant Tissue culture 10(1):1-8.

Al-Khalifah, N.S., Khan F.A., Askari E. & Hadi S. (2006). In vitro culture and genetic analysis of male and female Date Palm (Phoenix dactylifera). In: Fari,M.G., Holb,I. and Gy.D.Bisztray (Eds). Proc. 5th IS on Invitro Culture and Hort. Breeding. Acta Hort. (ISHS) 725: 653-662.

Bonga J.M. and VonAderkas P. (1992) . In vitro culture of Trees , Kluwer Academic Publisher, London.

Debergh P.C. and Maene L.J. (1981). A scheme for commercial propagation of ornamental plants by tissue culture. Sci. Hortic 14: 335-345.

Haberlandt, G. (1902). Kulturversuche mit isolierten Pflanzenzellsn. Sitzungsber. Akad. Der Wiss. Wien, Math. Naturwiss. K1.111:69-92

Loo S.W. (1945). Cultivation of excised stem tips of Asparagus in vitro . Amer. J. of Bot. 33: 295-300.

Miller C.O., Skoog F., Okumura F.S., von Salza M.H. and Strong F.M. (1955). Structure and synthesis of Kinetin . J. of Amer.Chem. Soc. 77: 2662-2663.

Murashige T. (1974). Plant propagation through tissue culture . Ann. Rev. Plant. phys. 25:135-166.

Robbins W.J. (1922). Cultivation of excised root-tips and stem tips under sterile conditions . Bot. Gaz. 73: 376-390.

Schwann T (1839). Mikroskopische Untersuchungen über die übereinstimmung in der struktur und dem Wachstum der Tiere und pflanzen, Oswalds, Berlin.

White P.R. (1939). Potentially unlimited growth of excised tomato root-tips in liquid medium. Plant Physiol. 9: 585-600.

Zaid,A. (1984). In vitro Browning of tissues and media with special emphasis to Date palm cultures, Date palm journal 3 (1) 269-275.

الجداول والملاحق

جدول (١) مثال لبعض عناصر بيئة الزراعة النسيجية وكمياتها التي تستحث نمو الخلايا النسيجية في مراحل مختلفة.

المركب	الصيغة الكيميائية	الكمية (ملجم/لتر)	التركيز
			(ملليمول/ لتر)
نترات الأمونيوم	NH_4NO_3	١٦٥٠	٢٠,٦١
كلوريد الكالسيوم اللامائية	$CaCl_2$	٣٣٢,٢	٢,٩٩
كبريتات المغنيسيوم	$MgSO_4$	١٨٠,٧	١,٥٠
نترات البوتاسيوم	KNO_3	١٩٠٠	١٨,٧٩
أحادي فوسفات البوتاسيوم	KH_2PO_4	١٧٠	١,٢٥
			(ميكرومول/ لتر)
حامض البوريك	H_3BO_3	٦,٢	١٠٠
كلوريد الكوبالت المائي	$CoCl_2.6H_2O$	٠,٠٢٥	٠,١١
كبريتات النحاس المائية	$CuSO_4.5H_2O$	٠,٠٢٥	٠,١
صوديوم إيثيلين ثنائي الأمين	Na_2–EDTA	٣٧,٢٦	١٠٠
كبريتات الحديد المائية	$FeSO_4.7H_2O$	٢٧,٨	١٠٠
كبريتات المنجنيز المائية	$MnSO_4.H_2O$	١٦,٩	١٠٠
مولبيدات الصوديوم المائية	$Na_2MoO_4.2H_2O$	٠,٢٥	١,٠٣
أيوديد البوتاسيوم	KI	٠,٨٣	٥
كبريتات الزنك المائية	$ZnSO_4.7H_2O$	٨,٦	٢٩,٩١
مايو أنوسيتول	$C_6H_{12}O_6$	١٠٠٠	٠,٥٦
جلايسين	NH_2CH_2OOH	٢	٢٦,٦٤
حامض النيكوتين	$C_6H_5NO_2$	٠,٥	٤,٠٦
بايرودكسين	$C_8H_{11}N_3OHCl$	٠,٥	٢,٤٣
ثيامين	$C_{12}H_{17}N_4O_5$	٠,١	٠,٣٠

جدول (٢) محتوى البيئة المغذية من الفيتامينات ومنظمات النمو خلال مراحل نمو النخيل.

عناصر الوسط المغذي	مرحلة تنشئة الكالس	مرحلة تكوين الأجنة	مرحلة تكوين البارادات	مرحلة التجذير
- العناصر الكبرى والصغرى (بيئة موراشيج وسكوج)	MS	MS	MS	
- السكروز جرام/لتر	٣٠	٣٠	٣٠	
- آجار جرام/لتر	٧	٧	٧	
- pH الحموضة	٥,٦	٥,٦	٥,٦	
- الفحم المنشط جرام/لتر	٣	١,٥	١,٥	
الفيتامينات : Vitamins ملجرام/لتر				
- ثيامين	١	١	١	١
- ميوانيوزيتول	١٠٠	١٠٠	١٠٠	١٠٠
- حامض النيكوتين	١	١	١	-
- بيريدوكسين	١	١	١	-
- بيوتين	١	١	١	-
الأحماض الأمينيه Amino Acids				
-جلوتامين				-
- سلفات الادنين	٢٠٠	٢٠٠	٢٠٠	٢٠٠
- جلايسين	٤٥	٤٥	٤٥	-
- برولين	٣	٣	٣	
الأوكسينات : Auxins				
اندول حامض الخليك LAA	١-٥	٠,١-١	٠,١-١	-
اندول حامض البيوتريك IBA	١-٥	٠,١-١	٠,١-١	-
نفثالين حامض الخليك NAA	٣	٣	٣	٠,٢
دي كلوروفينوكسي حامض الخليك 2,4-D	١٠٠	-	-	-
السيتوكينيات : Citokinins				
كاينتين K	-	٠,٢-١	٠,٢-١	-
زياتين Z	-	-	-	
بنزيل امينوبيورين BAP	١-٥	٠,١-١	٠,١-١	
ايزوبنتيل ادنين 2iP	١-٣	١-٣	١-٣	١-٣

جدول (٣) العناصر والمركبات الغذائية المستخدمة في بيئات الزراعة النسيجية وتركيبها الكيميائي وتركيزاتها في ٣ بيئات مللجرام/لتر .

المركب	التركيب	موراشييج وسكووج	كامبورج B5	وايت
- نترات الأمونيوم	NH_4NO_3	١٦٥٠	–	–
- نترات البوتاسيوم	KNO_3	١٩٠٠	٢٥٢٧,٥	٨٠
- نترات الكالسيوم المائية	$Ca(NO_3)_2.4H_2O$	–	–	٣٠٠
- سلفات المغنيسيوم المائية	$MgSO_4.7H_2O$	٣٧٠	٢٤٦,٥	٧٥٠
- سلفات المنجنيز المائية	$MnSO_4.H_2O$	٢٢,٣	–	٥
- سلفات الزنك المائية	$ZnSO_4.7H_2O$	٨,٦	٢	٣
- سلفات النحاس المائية	$CuSO_4.5H_2O$	٠,٠٢٥	٠,٠٢٥	
- يوديد البوتاسيوم	KI	٠,٨٣	٠,٧٥	
- كلوريد الكالسيوم المائية	$CaCl_2.2H_2O$	٤٤٠	١٥٠	–
- كلوريد الكوبالت المائية	$CoCl_2.6H_2O$	٠,٠٢٥	٠,٠٢٥	–
- فوسفات أحادية البوتاسيوم	KH_2PO_4	١٧٠	–	–
- حامض البوريك	H_3BO_3	٦,٢٠	٣	١,٥
- فوسفات الصوديوم المائية	$NaH_2PO_4.H_2O$	–	١٥٠	١٩
- سلفات الحديد المائية	$FeSO_4.7H_2O$	٢٧,٨	٢٧,٨	–
- شلات الصوديوم	Na_2-EDTA	٣٧,٣	٣٧,٣	–

جدول (٤) قائمة المختصرات والتركيبات الكيميائية المستخدمة في الزراعة النسيجية.

الرمز Abbreviation	المصطلح الكامل Full English term	الترجمة العربية
2,4-D	2,4-Dicholophenoxy acetic acid	حمض الخليك ثنائي الكلورين
NAA	a-Napthalene acetic acid	نافثالين حمض الخليك
IAA	Indole-3-acetic acid	اندول ٣حمض الخليك
IBA	3-Indole butyric acid	اندول ٣ حمض البيوتريك
NOA	B- Napthoxy acetic acid	بيتا نافثوكسي حمض الخليك
ABA	Abscisic acid	حمض الابسيسيك
TIBA	2,3,5-Tri-Iodobenzoic acid	تيبا
Piclorum	4-Amino-3,5,6- trichloropico-linic acid	بيكلورام
2,4,5-T	4-2,4,5 tricholorophenoxy acetic acid	٢-٤-٥- ثلاثي حمض الخليك
4-CPA	4- cholorophenoxy acetic acid	حمض الخليك الرباعي الكلورين
PCPA	p- clorophenoxy acetic acid	باراكلورو حمض الخليك
dicamba	3,6 Dichloro-2-methoxy ben-zoic acid	دايكامبا
MCPA	2-Methyl 4 cholorophenoxy acetic acid	حمض الخليك ثنائي الميثيل
BAP	6-Benzyl aminopurine	بنزايل امينو بيورين
iP 2	6-(y,y-dimethyl alyl-) amino-purine	امينو بيورين ثنائي الميثيل
Kinetin	6-Furfuryl aminopurine	كايناتين
GA 3	Gibberlic acid	حمض الجبريليك
FAA	Formaline aceto alchohol	فورمالين
DMF	N,N, Dimethylformamide	ميثايل فورمامايد ثنائي
MS	Murashige and Skoog (1962)	بيئة مورشييج وسكوج
pH	Potential of hydrogen	درجة حموضة الوسط الغذائي

ملحق (١) بعض المقاييس والمعايير الهامة في الزراعة النسيجية.

Length الأطوال لقياس معدلات النمو: 1 inch = 25.4 millimeter (mm) = 2.54 centimeter (cm) 1mm = 0.03937 inch
Temperature درجة الحرارة للتحضين والتعقيم: $32^oF = 0^oC$ $80^oF = 27^oC$ $257\ ^oF = 121\ ^oC$ $50^oF = 10^oC$ $86^oF = 30^oC$ $68^oF = 20^oC$ $212^oF = 100^oC$
Concentration التركيزات لتحديد كميات العناصر المضافة: $1 \text{ part per million (ppm)} = \dfrac{1\text{mg}}{1\text{ kg}} = \dfrac{1\text{mg}}{1 \text{ liter of } H_2O}$ $\text{Number of moles} = \dfrac{\text{weight in grams}}{\text{Molecular weight}}$ $\text{1-molar solution} = 1\text{ M} = \dfrac{\text{1 mole of solute}}{\text{1 liter of solvent}}$ $\text{1-milimolar solution} = \text{mM} = \dfrac{\text{0.001 mole of solute}}{\text{1 liter of solvent}}$ 1-micromolar solution = 1 µM = 0.001 mM = 1×10^{-6} mole of solute 1 liter of solvent

Weight الأوزان لتحديد الكميات المضافة وتحديد معدلات النمو:

$$1 \text{ gram (g or gm)} = \frac{1}{453} \text{ lb}$$

$$1 \text{ milligram (mg)} = \frac{1}{1000} \text{ g}$$

$$1 \text{ microgram } (\mu g) = \frac{1}{1000} \text{ mg} = 1 \text{ X } 10^{-6} \text{ g}$$

هاتف : ٤٨٨٣٤٤٤ ـ ٤٨٨٣٥٥٥
فاكس : ٤٨٨٣٧٥٦
ص.ب. ٦٠٨٦ الرياض ١١٤٤٢
المملكة العربية السعودية
مدينة الملك عبدالعزيز للعلوم والتقنية

رقم الوثيقة: 14P0025-FLY-0001-ER01

الموقع الالكتروني: www.kacst.edu.sa
المكتبة الالكترونية: kacst.edu.sa/ar/about/publications
البريد الالكتروني: awareness@kacst.edu.sa

مطابع مدينة الملك عبدالعزيز للعلوم والتقنية
ردمك: ٩٧٨- ٦٠٣ - ٨٠٤٩-٣٣-٤